

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
COORDENAÇÃO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

KARLIVÂNIA FERREIRA DE ANDRADE

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE ESPONJAS DE QUITOSANA E
NANOPARTÍCULAS DE POLICAPROLACTONA CARREANDO ÁCIDO
TRANEXÂMICO**

JOÃO PESSOA

2018

KARLIVÂNIA FERREIRA DE ANDRADE

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE ESPONJAS DE QUITOSANA E
NANOPARTÍCULAS DE POLICAPROLACTONA CARREANDO ÁCIDO
TRANEXÂMICO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação
em Odontologia, da Universidade
Federal da Paraíba em cumprimento
às exigências para conclusão.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Rogério Ferreti Bonan

JOÃO PESSOA

2018

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

A553d Andrade, Karlivânia Ferreira de.

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE ESPONJAS DE
QUITOSANA E NANOPARTÍCULAS DE POLICAPROLACTONA
CARREANDO ÁCIDO TRANEXÂMICO / Karlivânia Ferreira de
Andrade. - João Pessoa, 2018.
35 f. : il.

Orientação: Paulo Rogério Ferreti Bonan.
Monografia (Graduação) - UFPB/CCS.

1. Quitosana. 2. Ácido Tranexâmico. 3. Nanopartículas.
I. Bonan, Paulo Rogério Ferreti. II. Título.

UFPB/BC

KARLIVÂNIA FERREIRA DE ANDRADE

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação
em Odontologia, da Universidade
Federal da Paraíba em cumprimento às
exigências para conclusão.

Monografia aprovada em 12 / 06 / 2018



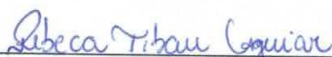
Prof. Paulo Rogério Ferreti Bonan
(Orientador – UFPB)



Prof. Lúcio Roberto Cançado Castellano
(Examinador – UFPB)



Prof. Jefferson Muniz de Lima
(Examinador – UFPE)



Profª. Rebeca Tibau Aguiar
(Examinadora – UFPB)

DEDICATÓRIA

À Deus, meu amigo fiel,
e a minha amada família,
Painho, Mainha, Kika, Aninha,
Flavinho e Vovó.

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus, pois até aqui tem me sustentado e abençoado.

Aos meus queridos pais, José Marlúcio de Andrade e Glaucineide Ferreira de Andrade, por todo cuidado e zelo pela minha formação profissional e pessoal. Por todo amor, incentivos, investimentos, orações e pela criação exemplar que me deram.

Às minhas irmãs, Kaliandra e Carliane pelo amor, companheirismo, conselhos, apoio e paciência com a caçulinha.

Ao meu orientador, prof. Dr. Paulo Rogério Ferreti Bonan, pela confiança, paciência, compreensão. Por abrir as portas no campo da pesquisa científica. Por ser um excelente exemplo de profissional e pela paz transmitida.

À Jefferson Muniz de Lima, por toda disponibilidade e ajuda para que essa pesquisa fosse realizada. Meus sinceros agradecimentos!

À Rebeca, Camila e Lucas por toda gentileza e suporte laboratorial.

Aos professores Lúcio Castellano, André Ulisses, Eliton Souto por terem cedido seus laboratórios para a realização desta pesquisa.

A Laura Verbena pela amizade e pelo convívio harmonioso durante a graduação.

Ao Grande Grupo, em especial, Luana Maria, Rafael Antônio, Aída Cecília e Tiago Barbosa, que apesar da distância nossa amizade e amor permanecem inabaláveis. Obrigada por todos os momentos especiais e por sempre arrumarem um tempinho para mim. Amo vocês!

A minha duplinha Adricy Halany por todo apoio, comprometimento, companheirismo, bagunça e amizade.

A todos os professores da Universidade Federal da Paraíba que foram peça fundamental para minha formação profissional e pessoal.

Aos pacientes, pela confiança e por contribuírem imensuravelmente para o meu aprendizado.

À turma de Odontologia 2018.1 – Turma Profa. Dra. Bianca Marques Santiago – por todos os momentos compartilhados durante a graduação. Vocês são um presente de Deus!

“Mas esforçai-vos, e não desfaleçam as vossas mãos; porque a vossa obra tem uma recompensa.” (2 Crônicas 15:7)

Sumário

INTRODUÇÃO	12
MATERIAL E MÉTODOS.....	13
Materiais	13
Síntese das nanopartículas.....	13
Solução de quitosana e síntese das esponjas	13
Caracterização físico-química das nanopartículas	13
Caracterização das esponjas	14
Análise estatística	14
Financiamento.....	14
RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
CONCLUSÃO	20
REFERÊNCIAS	21
ANEXOS	24
ANEXO 1 – Normas da Revista	24
ANEXO 2 – Declaração de Direito Autoral	31
ANEXO 3 – Declaração de Conflito de Interesse.....	32
ANEXO 4 – Declaração de Importância	33
ANEXO 5 – Carta Endereçada ao Editor	34

Página de Identificação

Desenvolvimento e Caracterização de Esponjas de Quitosana e Nanopartículas de
Policaprolactona Carreando Ácido Tranexâmico

Development and Characterization of Chitosan Sponges and Polycaprolactone Nanoparticles
loading Tranexamic Acid

Esponjas Nanoestruturadas de Quitosana/PCL-ATX
Nanostructured Chitosan sponges/PCL-ATX.

Autor para correspondência:

Karlivânia Ferreira de Andrade. E-mail: karlivania.7@gmail.com

RESUMO

O objetivo deste estudo foi produzir e caracterizar esponjas de quitosana (CS) e nanopartículas de policaprolactona (PCL) carregadas com ácido tranexâmico (ATX). As nanopartículas foram sintetizadas pela técnica de emulsificação/evaporação do solvente e caracterizadas por perfilometria, mensuração do potencial zeta (ZP), tamanho de partícula (Z-Ave) e índice de polidispersão (PdI). A análise inferencial foi realizada pelo teste t-student ($\alpha=5\%$). Os respectivos valores (média \pm desvio padrão) de altura pela perfilometria, ZP, Z-Ave e PdI das NanoPCL foram: $361 \pm 82,93$, $-34,77 \pm 1,317$, $216 \pm 2,018$ e $0,1497 \pm 0,005044$; para as NanoPCL/ATX: $115,1 \pm 21,04$, $-27,73 \pm 0,6173$, $154,4 \pm 0,6351$ e $0,1377 \pm 0,02018$. As esponjas foram obtidas pela técnica de liofilização e caracterizadas por perfilometria. Observou-se que sem quitosana não houve formação de esponjas. A análise estatística da rugosidade superficial (Sa) e rugosidade média (Ra) foi feita pelo teste Two-way ANOVA ($\alpha=5\%$). Houve diferenças entre os valores de rugosidade média das esponjas de 75CS/25PCL-ATX, 75CS/25PCL, 50CS/50PCL-ATX e 50CS/50PCL ($p<0,05$). Este estudo sintetizou e caracterizou de forma satisfatória esponjas de CS/PCL-ATX com possível potencial terapêutico para manejo hemostático.

Palavras-chave: Quitosana, Ácido Tranexâmico, Nanopartículas.

ABSTRACT

This study aimed at to produce and to characterize of chitosan sponges (CS) and polycaprolactone (PCL) nanoparticles loading tranexamic acid (ATX). The nanoparticles were synthesized by solvent emulsification/evaporation technique and analyzed through profilometric characterization, zeta potential (ZP), particle size (Z-Ave) and polydispersity index (PdI). The inferential analysis was carried out through t-student test ($\alpha = 5\%$). The respective values (mean \pm standard deviation) of height by the profilometry, ZP, Z-Ave and PdI of the NanoPCL were: 361 ± 82.93 , -34.77 ± 1.317 , 216 ± 2.018 and 0.1147 ± 0.005044 ; for the NanoPCL/ATX: 115.1 ± 21.04 , -27.73 ± 0.6173 , 154.4 ± 0.6351 and 0.1377 ± 0.02018 . The sponges were obtained by the lyophilization technique and characterized by profilometry. It was observed that the lack of chitosan led to no sponge formation. The statistical analysis of surface roughness (Sa) and mean roughness (Ra) was performed using the two-way ANOVA test ($\alpha = 5\%$). There were differences between the mean roughness values of the 75CS/25PCL-ATX, 75CS/25PCL, 50CS/50PCL-ATX and 50CS/50PCL sponges ($p < 0,05$). This study synthesized and characterized satisfactorily CS/PCL-ATX sponges with possible therapeutic potential for hemostatic management.

Keywords: Chitosan, Tranexamic Acid, Nanoparticles.

1 INTRODUÇÃO

2 Com o crescimento da população idosa e da expectativa de vida, o número de
3 pacientes com doenças crônicas que fazem uso de terapia antitrombótica tem aumentado
4 (Cocero *et al.*, 2014). Além disso, os pacientes idosos apresentam maior risco de sangramento
5 devido à alta demanda por cirurgia oral (de Vasconcellos *et al.*, 2017).

6 Embora o risco de sangramento transoperatório e pós-operatório associado a cirurgia
7 dentária em pacientes sob terapia antitrombótica seja baixo (Rocha *et al.*, 2018), quadros
8 hemorrágicos, mesmo em pequena proporção, podem causar ansiedade e estresse tanto ao
9 cirurgião-dentista como ao paciente (Wahl, Pinto, Kilham, & Lalla, 2015).

10 A hemostasia apresenta duas classificações, a hemostasia primária, relacionada à
11 agregação plaquetária e formação de tampão plaquetário e a hemostasia secundária, referente
12 à deposição de fibrina insolúvel, que é gerada pela cascata de coagulação proteolítica. Esses
13 dois processos acontecem simultaneamente e são mecanicamente interligados. A via da
14 fibrinólise também desempenha um papel significativo na hemostasia (Gale, 2011).

15 O ácido tranexâmico (ATX), um análogo sintético da lisina, atua inibindo a
16 fibrinólise, bloqueando os sítios de ligação à lisina do plasminogênio (Vamvakas &
17 Blajchman, 2009; Kłak *et al.*, 2010). Evidências atualmente disponíveis sugerem que a
18 irrigação de sítio cirúrgico com ácido tranexâmico, seguido de bochechos durante a primeira
19 semana de pós-operatório é seguro e pode reduzir risco de sangramento após cirurgias orais
20 menores em pacientes anticoagulados (de Vasconcellos *et al.*, 2017).

21 Com a necessidade de obter biomateriais que atuem por liberação controlada de
22 fármacos como agentes hemostáticos, polímeros como a quitosana (CS) e o policaprolactona
23 (PCL) vem sendo estudados. A quitosana apresenta propriedades como biocompatibilidade,
24 biodegradabilidade, não toxicidade, habilidades de adsorção quando usada em concentrações
25 adequadas (Pang *et al.*, 2017), boa atividade hemaglutinante e baixo efeito hemolítico quando
26 em soluções com pH neutro (Lima *et al.*, 2015).

27 O PCL tem as vantagens de biodegradabilidade e biocompatibilidade, porém possui
28 baixa hidrofiliabilidade, uma lenta taxa de degradação, e carece de sítios de reconhecimento de
29 superfície celular (Chong, Lim, & Sultana, 2015). É desejável que ocorra associação dos dois
30 polímeros e gerem um composto que reforcem suas deficiências mecânicas isoladas.

31 Este estudo teve o objetivo sintetizar e caracterizar esponjas de quitosana (CS) e
32 nanopartículas de policaprolactona carregadas com ácido tranexâmico (NanoPCL/ATX).

MATERIAL E MÉTODOS

Materiais

Quitosana (75% desacetilada, Sigma Aldrich), policaprolactona (peso molecular: 65.000 mg/mol, Sigma Aldrich), ácido tranexâmico (peso molecular: 157,2 mg/mol), Acetona, P.A (peso molecular: 58,08 mL/Mol), ácido acético, polissorbato 80 (Tween 80, Sigma Aldrich), soro fisiológico, água destilada.

Síntese das nanopartículas

A síntese das partículas foi realizada através da técnica de emulsificação/evaporação do solvente. Foi preparada uma solução de 5,4 mg/mL de PCL (145,8 mg) solubilizada em acetona (27 mL), sob agitação magnética e aquecimento de 30°C (no equipamento Cimarec - Thermo Scientific). Uma razão de 20 % (m/m) do fármaco em relação a massa dos polímeros foi adicionada a solução. Após a dissolução do PCL e do ATX, o surfactante polissorbato 80 (0,4 µL) foi adicionado, constituindo a fase interna da emulsão. Em seguida, essa fase foi emulsificada na fase externa, representada pela água destilada (85 mL), sob agitação magnética e aquecimento de 30°C, com taxa de gotejamento de 330 µL. hr⁻¹ usando a bomba de seringa (NE-1000, Syringe Pump). A solução foi mantida sob agitação magnética *overnight* até a evaporação completa do solvente e depois o volume perdido foi resposto com água destilada. Também foram produzidas nanopartículas sem o fármaco.

Solução de quitosana e síntese das esponjas

A quitosana (75% desacetilada, Sigma-Aldrich) foi diluída em ácido acético 1% (v/v) na concentração de 6,25 mg/L⁻¹ sob agitação magnética em temperatura ambiente durante 6 horas. Em seguida, foi vertido em placa de Petri (6 cm de diâmetro) um volume final da mistura das soluções de CS com as nanoPCL/ATX, obtendo-se as seguintes concentrações (v/v): 100CS/0PCL (CS), 75CS/25PCL (CS/PCL-1), 50CS/50PCL (CS/PCL-2), 0CS/100PCL (NanoPCL), 75CS/25PCL (CS/PCL-1+ATX), 50CS/50PCL (CS/PCL-2+ATX), 0CS/100PCL+ATX (NanoPCL+ATX).

As amostras foram congeladas na temperatura de -15°C e posteriormente liofilizadas por 16 horas 3 vezes consecutivas até a obtenção das esponjas utilizando o equipamento Liofilizador (L101 – LÍOTOP).

Caracterização físico-química das nanopartículas

A avaliação da altura foi feita por perfilometria óptica (CCI MP, Taylor Hobson). A mensuração do potencial zeta (ZP), foi realizada por leituras em triplicata utilizando o

equipamento SZ-100 (Horiba, Japão). Essa leitura permitiu aferir o tamanho e forma das partículas. As amostras foram avaliadas quanto ao índice de polidispersão (PDI) por espalhamento dinâmico de luz (DLS) a 25°C em equipamento Zetasizer - Nano series, Malvern. Esse parâmetro está diretamente relacionado à estabilidade físico-química das nanopartículas.

Caracterização das esponjas

À leitura das superfícies foram realizadas no perfilômetro CCI MP, marca Taylor Hobson. As condições de análise foram lente de 20x, resolução 512 x 512 pixels e imagens com cut-off de 0,008 µm.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada através do software Graphpad Prism, em que foram utilizados os testes t Student para as nanopartículas e Two-way ANOVA com múltiplas comparações de Sidak para as esponjas. Foi adotado nível de significância de 5%.

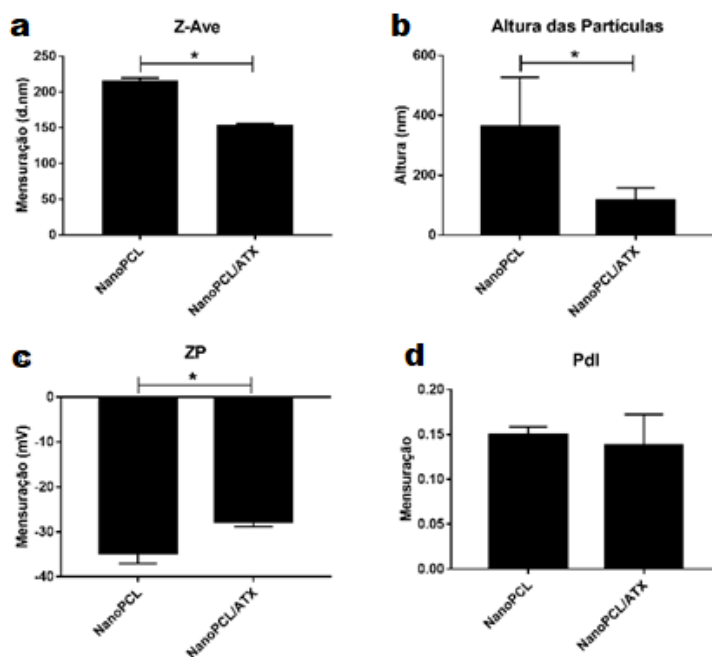
Financiamento

Esta pesquisa foi realizada com o apoio financeiro do CNPQ.

1 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2 A técnica de emulsificação/evaporação do solvente adotada neste trabalho, permitiu
3 que nanopartículas de PCL, estabilizadas pelo tensoativo polissorbato 80, fossem obtidas.

4 A análise estatística mostrou que houve diferenças entre os valores de altura, potencial
5 zeta (ZP) e tamanho médio de partículas (Z-Ave), mas o índice de polidispersão (PdI) não
6 apresentou diferença significativa (Figura 1).



20 **FIGURA 1** – Resultados da análise estatística (nm) para tamanho médio de partícula (Z-Ave)
21 (* $p < 0,0001$) (a), altura por perfilometria (* $p = 0,0283$) (b), potencial zeta (ZP) (* $p = 0,0084$) (c) e
22 índice de polidispersão (PdI) (d).

24 Em relação ao potencial zeta, as nanopartículas de ambas formulações apresentaram
25 valores negativos, sendo -34,77 mV para nanoPCL e -27,73 mV para as nanoPCL/ATX. A
26 carga negativa pode ser explicada pela natureza aniônica do PCL. Deng *et al.* (2016),
27 utilizando o método de emulsificação/evaporação do solvente e interação eletrostática,
28 sintetizaram nanopartículas de polietilenoimina-policaprolactona (PEI-PCL), estabilizadas
29 com carboximetil dextrano, com e sem carreamento de rubone. Os resultados apresentaram
30 um potencial zeta negativo, com valores de -29 mV e -30,6 mV, respectivamente. Joseph,
31 Reddi, Rinwa, Balwani, & Saha, (2018) produziram sistemas nanoparticulados de
32 policaprolactona carregados com olanzapina pelo método de nanoprecipitação e obtiveram
33 potencial zeta condizente com os por nós encontrados.

O tamanho médio (Z-Ave) e índice de polidispersão (PdI) das nanopartículas são fornecidos pela técnica de espalhamento dinâmico da luz (Pal, Jana, Manna, Mohanta, & Manavalan, 2011). O presente estudo mostrou que a média do tamanho médio das NanoPCL foi de $216 \pm 2,018$ nm e na presença do fármaco, $154,4 \pm 0,635$ nm. Ambas as formulações foram monodispersas, apresentando índices de polidispersão (PdI) abaixo de 0,2, indicando que as partículas produzidas apresentam uma faixa estreita de tamanhos. Os resultados mostram que as nanopartículas apresentam boa estabilidade.

Leimann *et al.* (2015) produziram nanopartículas de PCL carregadas com progesterona. As partículas de PCL apresentaram tamanho médio e índice de polidispersão de acordo com os nossos. Resultados semelhantes também foram achados nos estudos de Jesus *et al.* (2017) ao produzirem nanopartículas de PCL com e sem ovalbumina adsorvida, tendo como surfactante o tween 80. Tuba Sengel-Turk *et al.* (2016) usando o método de nanoprecipitação, obtiveram valores de PdI compatíveis com o presente estudo, porém valores maiores foram obtidos quando o método de evaporação/emulsificação do solvente foi utilizado. Isso comprova que a técnica influencia as propriedades do material.

A perfilometria óptica permitiu uma avaliação precisa das partículas em solução, onde foi possível mensurar a altura das mesmas. As nanoPCL apresentaram $361 \pm 82,93$ nm de altura e as NanoPCL/ATX $115 \pm 21,04$ nm, com formato esférico, como ilustra a Figura 2, corroborando com os tamanhos de partículas provenientes do potencial zeta.

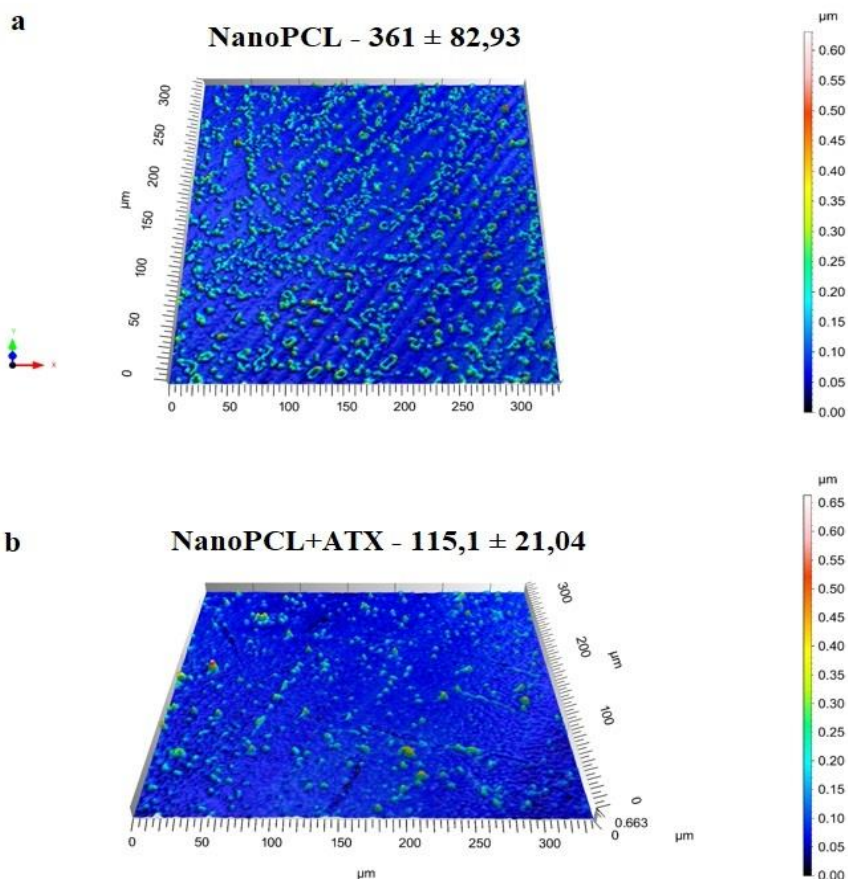


FIGURA 2 – Imagem topográfica da superfície das amostras de NanoPCL (a) e NanoPCL/ATX (b), obtidas por perfilometria óptica 3D.

A técnica de liofilização permitiu a obtenção das esponjas de quitosana e nanopartículas de PCL com e sem o fármaco. Foi visualizado que a esponja de CS pura apresentou forma uniforme e coloração branco-amarelada (Figura 3a). As concentrações de 50CS/50PCL e 50CS/50PCL+ATX apresentaram um aspecto de algodão e coloração esbranquiçada (Figura 3cf). Já as amostras contendo 0CS/100PCL e 0CS/100PCL+ATX apresentaram características de pó, não formando esponjas (Figura 3dg).

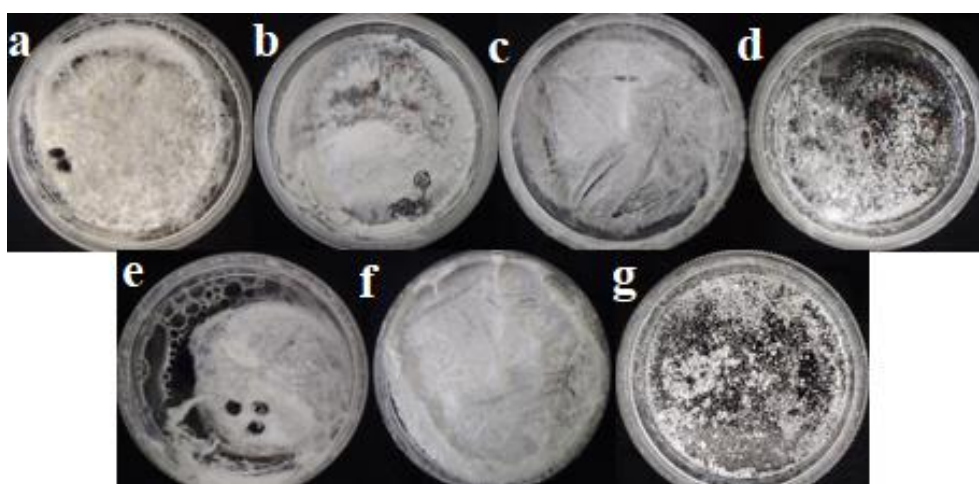


FIGURA 3 – Imagem das esponjas de CS (a), CS/PCL-1 (b), CS/PCL-2 (c), NanoPCL (d), CS/PCL-1+ATX (e), CS/PCL-2+ATX (f) e NanoPCL+ATX (g).

Os resultados estatísticos (média \pm desvio padrão) da rugosidade superficial (S_a) e rugosidade média (R_a) das esponjas de 100CS, 75CS/25PCL-ATX, 50CS/PCL-ATX, 75CS/25PCL, 50CS/50PCL e das amostras de 100PCL-ATX e 100PCL são ilustrados na figura 4. Houve diferenças estatísticas entre os valores de rugosidade média das esponjas de 75CS/25PCL-ATX, 75CS/25PCL e 50CS/50PCL-ATX, 50CS/50PCL (Figura 4b).

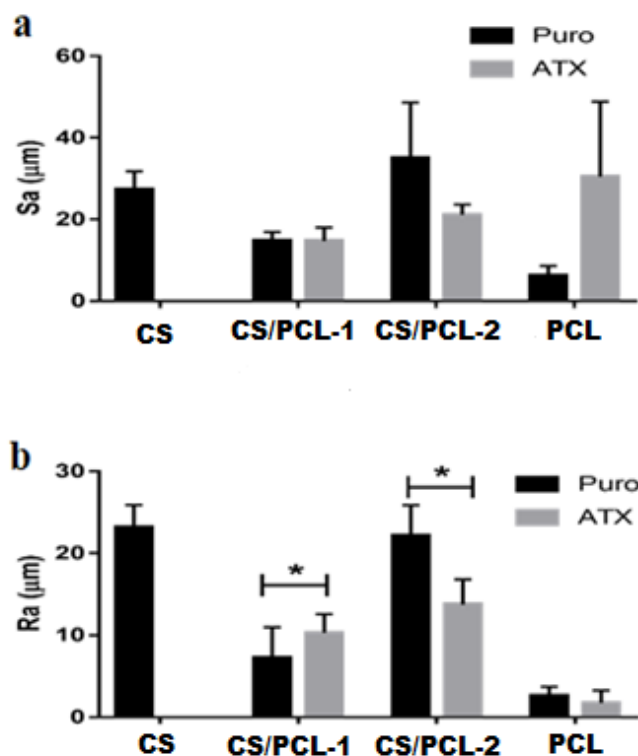


FIGURA 4 – Resultados das Médias \pm Desvio-padrões pelo teste Two-way ANOVA para Rugosidade superficial (a) e Rugosidade média (b) das esponjas de CS/PCL com e sem ATX e solução de PCL puro.

A avaliação da superfície das esponjas por perfilometria óptica revelou que, a esponja de CS puro apresenta maior rugosidade média ($25,36 \pm 0,30$) e menor número de poros (Figura 5a). Com a diminuição da concentração de quitosana é possível visualizar o aumento da quantidade de espaços e diminuição da rugosidade, causadas pelo predomínio do PCL, que não tem a propriedade estrutural de formar esponja. O PCL com e sem ATX foi visto como um aglomerado formado por pó na periferia da imagem (Figura 5dg).

Hassan & Sultana (2017), caracterizaram membranas de PCL puro e PCL com nanoHidroxiapatita por meio da microscopia de força atômica. Eles concluíram que a incorporação das nanoHidroxiapatita à membrana de PCL aumentou a rugosidade superficial, porém a membrana de PCL pura apresentou melhores propriedades mecânicas. Em nosso estudo, a presença ou ausência do ácido tranexâmico não teve influência significativa na rugosidade superficial das amostras.

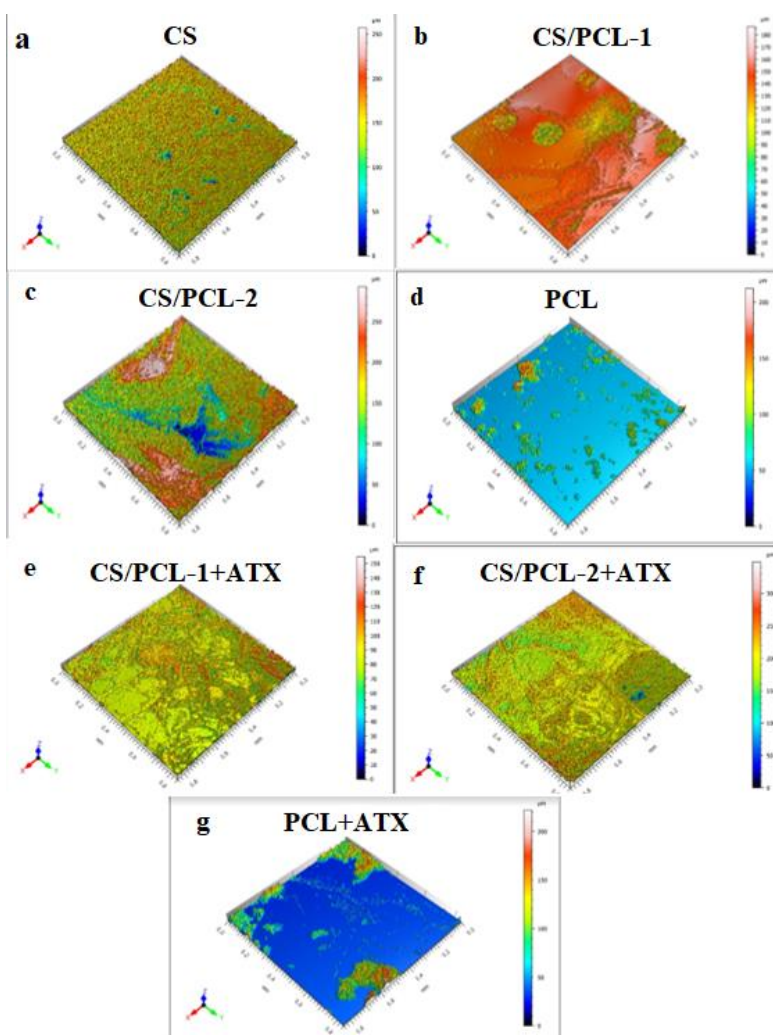


FIGURA 5 – Imagem topográfica das esponjas de CS (a), CS/PCL-1 (b), CS/PCL-2 (c), NanoPCL (d), CS/PCL-1+ATX (e), CS/PCL-2+ATX (f) e NanoPCL+ATX (g), obtidas por perfilometria óptica 3D.

1 CONCLUSÃO

2 Este trabalho confirma que o método de emulsificação e evaporação de solvente foi
3 eficiente para a síntese de nanopartículas de policaprolactona com e sem carreamento de ácido
4 tranexêmico, com propriedades físico-químicas desejáveis para carreamento de drogas. O
5 método de liofilização mostrou-se eficaz para produção das esponjas de quitosana,
6 mostrando-se promissor para futuros ensaios in vitro e in vivo.

REFERÊNCIAS

- Banerjee, N., Sengupta, S., Roy, A., Ghosh, P., Das, K., & Das, S. (2011). Functional alteration of a dimeric insecticidal lectin to a monomeric antifungal protein correlated to its oligomeric status. *PLoS ONE*, 6(4), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018593>
- Chong, L. H., Lim, M. M., & Sultana, N. (2015). Fabrication and evaluation of polycaprolactone/gelatin-based electrospun nanofibers with antibacterial properties. *Journal of Nanomaterials*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/970542>
- Cocero, N., Mozzati, M., Ambrogio, M., Bisi, M., Morello, M., & Bergamasco, L. (2014). Bleeding rate during oral surgery of oral anticoagulant therapy patients with associated systemic pathologic entities: A prospective study of more than 500 extractions. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 72(5), 858–867. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2013.12.026>
- de Vasconcellos, S. J. de A., de Santana Santos, T., Reinheimer, D. M., Faria-e-Silva, A. L., de Melo, M. de F. B., & Martins-Filho, P. R. S. (2017). Topical application of tranexamic acid in anticoagulated patients undergoing minor oral surgery: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 45(1), 20–26. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2016.10.001>
- Deng, X., Yin, Z., Zhou, Z., Wang, Y., Zhang, F., Hu, Q., ... Zeng, Y. (2016). Carboxymethyl Dextran-Stabilized Polyethylenimine-Poly(epsilon-caprolactone) Nanoparticles-Mediated Modulation of MicroRNA-34a Expression via Small-Molecule Modulator for Hepatocellular Carcinoma Therapy. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 8(27), 17068–17079. <https://doi.org/10.1021/acsami.6b03122>
- Fan, W., Yan, W., Xu, Z., & Ni, H. (2012). Erythrocytes load of low molecular weight chitosan nanoparticles as a potential vascular drug delivery system. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 95, 258–265. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.03.006>
- Gale, A. (2011). Current understanding of hemostasis. *Toxicol Pathol.*, 39(1), 273–280. <https://doi.org/10.1177/0192623310389474>.Current
- Gartziandia, O., Herran, E., Pedraz, J. L., Carro, E., Igartua, M., & Hernandez, R. M. (2015). Chitosan coated nanostructured lipid carriers for brain delivery of proteins by intranasal administration. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 134, 304–313.

- 32 <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.06.054>
- 33 Hassan, M. I., & Sultana, N. (2017). Characterization, drug loading and antibacterial activity
34 of nanohydroxyapatite/polycaprolactone (nHA/PCL) electrospun membrane. *3 Biotech*,
35 7(4). <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0889-0>
- 36 Jesus, S., Fragal, E. H., Rubira, A. F., Muniz, E. C., Valente, A. J. M., & Borges, O. (2017).
37 The Inclusion of Chitosan in Poly- ϵ -caprolactone Nanoparticles: Impact on the Delivery
38 System Characteristics and on the Adsorbed Ovalbumin Secondary Structure. *AAPS*
39 *PharmSciTech*, (6). <https://doi.org/10.1208/s12249-017-0822-1>
- 40 Joseph, E., Reddi, S., Rinwa, V., Balwani, G., & Saha, R. (2018). DoE based Olanzapine
41 loaded poly-caprolactone nanoparticles decreases extrapyramidal effects in rodent
42 model. *International Journal of Pharmaceutics*, 541(1–2), 198–205.
43 <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.02.010>
- 44 Kłak, M., Änäkälä, N., Wang, W., Lange, S., Jonsson, I. M., Tarkowski, A., & Jin, T.
45 (2010). Tranexamic acid, an inhibitor of plasminogen activation, aggravates
46 staphylococcal septic arthritis and sepsis. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*,
47 42(5), 351–358. <https://doi.org/10.3109/00365540903510690>
- 48 Leimann, F. V., Biz, M. H., Kaufmann, K. C., Maia, W. J., Honçalves, O. H., Cardozo Filho,
49 L., ... Araújo, P. H. H. de. (2015). Characterization of progesterone loaded
50 biodegradable blend polymeric nanoparticles. *Ciência Rural*, 45(11), 2082–2088.
51 <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20141288>
- 52 Lima, J. M. D., Sarmiento, R. R., Souza, J. R. D., Brayner, F. A., Feitosa, A. P. S., Padilha, R.,
53 ... Castellano, L. R. (2015). Evaluation of hemagglutination activity of chitosan
54 nanoparticles using human erythrocytes. *BioMed Research International*, 2015, 3–9.
55 <https://doi.org/10.1155/2015/247965>
- 56 Mercy HP, Halim AS, H. A. (2012). Chitosan-derivatives as hemostatic agents: their role in
57 tissue regeneration. *Regenerative Research*, 1(6), 38–46.
- 58 Pal, S. L., Jana, U., Manna, P. K., Mohanta, G. P., & Manavalan, R. (2011). Nanoparticle: An
59 overview of preparation and characterization. *Journal of Applied Pharmaceutical*
60 *Science*, 1(6), 228–234. <https://doi.org/10.7897/2230-8407.04408>
- 61 Pang, Y., Qin, A., Lin, X., Yang, L., Wang, Q., Wang, Z., ... Hu, Q. (2017). Biodegradable

and biocompatible high elastic chitosan scaffold is cell-friendly both in vitro and in vivo, 8(22), 35583–35591.

Pogorielov, M., Kalinkevich, O., Deineka, V., Garbuzova, V., Solodovnik, A., Kalinkevich, A., ... Danilchenko, S. (2015). Haemostatic chitosan coated gauze: In vitro interaction with human blood and in-vivo effectiveness. *Biomaterials Research*, 19(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s40824-015-0044-0>

Rao, S. B., & Sharma, C. P. (1997). Use of chitosan as a biomaterial: Studies on its safety and hemostatic potential. *Journal of Biomedical Materials Research*, 34(1), 21–28. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(199701\)34:1<21::AID-JBM4>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(199701)34:1<21::AID-JBM4>3.0.CO;2-P)

Rocha, A. L., Souza, A. F., Martins, M. A. P., Fraga, M. G., Travassos, D. V., Oliveira, A. C. B., ... Silva, T. A. (2018). Oral surgery in patients under antithrombotic therapy. *Blood Coagulation & Fibrinolysis*, 29(1), 97–103. <https://doi.org/10.1097/MBC.0000000000000677>

Tuba Sengel-Turk, C., Hascicek, C., Bakar, F., & Simsek, E. (2016). Comparative Evaluation of Nimesulide-Loaded Nanoparticles for Anticancer Activity Against Breast Cancer Cells. *AAPS PharmSciTech*, 18(2). <https://doi.org/10.1208/s12249-016-0514-2>

Vamvakas, E. C., & Blajchman, M. A. (2009). Transfusion-related mortality: The ongoing risks of allogeneic blood transfusion and the available strategies for their prevention. *Blood*, 113(15), 3406–3417. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-10-167643>

Wahl, M. J., Pinto, A., Kilham, J., & Lalla, R. V. (2015). *Dental surgery in anticoagulated patients - Stop the interruption. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology* (Vol. 119). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2014.10.011>

ANEXOS

ANEXO 1 – Normas da Revista



Diretrizes para Autores

POLÍTICA DE ACESSO ABERTO

Acta Scientiarum. Health Sciences é publicada sob o modelo Acesso Aberto e permite a qualquer um a leitura e download, bem como a cópia e disseminação de seu conteúdo de acordo com as políticas de copyright Creative Commons Attribution 3.0.

APCs (TAXA DE PROCESSAMENTO DE ARTIGO) E TAXA DE SUBMISSÃO

Acta Scientiarum. Health Sciences não cobra aos autores qualquer tipo de taxa de submissão ou publicação.

POLÍTICA CONTRA PLÁGIO E MÁS-CONDUTAS EM PESQUISA

Continuando nossa tradição de excelência, informamos as melhorias editoriais que visam fortalecer a integridade dos artigos publicados por esta revista. Em conformidade com as diretrizes do [COPE](http://publicationethics.org) (*Committee on Publication Ethics*), que visam incentivar a identificação de plágio, más práticas, fraudes, possíveis violações de ética e abertura de processos, indicamos:

1. Os autores devem visitar o website do COPE <http://publicationethics.org>, que contém informações para autores e editores sobre a ética em pesquisa;

2. Antes da submissão, os autores devem seguir os seguintes critérios:

- Com o objetivo de evitar a endogenia e diversidade dos autores publicados, exigimos que, após a publicação na revista, os autores aguardem, no mínimo, 1 ano até publicarem qualquer outro artigo no periódico.

- artigos que contenham aquisição de dados ou análise e interpretação de dados de outras publicações devem referenciá-las de maneira explícita;
- na redação de artigos que contenham uma revisão crítica do conteúdo intelectual de outros autores, estes deverão ser devidamente citados;
- todos os autores devem atender os critérios de autoria inédita do artigo e nenhum dos pesquisadores envolvidos na pesquisa poderá ser omitido da lista de autores;
- a aprovação final do artigo será feita pelos editores e conselho editorial.

3. Para responder aos critérios, serão realizados os seguintes procedimentos:

- a) Os editores avaliarão os manuscritos com o sistema CrossCheck logo após a submissão. Primeiramente será avaliado o conteúdo textual dos artigos científicos, procurando identificar plágio, submissões duplicadas, manuscritos já publicados e possíveis fraudes em pesquisa;
- b) Com os resultados, cabe aos editores e conselho editorial decidir se o manuscrito será enviado para revisão por pares que também realizarão avaliações;
- c) Após o aceite e antes da publicação, os artigos poderão ser avaliados novamente.

INSTRUÇÕES PARA SUBMISSÃO DE ARTIGOS:

1. *Acta Scientiarum. Health Sciences*, ISSN 1807-8648 (*on-line*), é publicada pela Universidade Estadual de Maringá, na modalidade publicação contínua.
2. A revista publica artigos originais em todas as áreas relevantes da Saúde, incluindo: Análises Clínicas, Educação Física, Enfermagem, Farmácia, Farmacologia, Fonoaudiologia, Fisioterapia e Terapia Ocupacional, Medicina, Nutrição, Odontologia e Saúde Coletiva.
3. Os autores se obrigam a declarar a cessão de direitos autorais e que seu manuscrito é um trabalho original, e que não está sendo submetido, em parte ou no seu todo, à análise para publicação em outro meio de divulgação científica sob pena de exclusão. Esta declaração encontra-se disponível no endereço: <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciHealthSci/about/submissions>.

4. Os dados, ideias, opiniões e conceitos emitidos nos artigos, bem como a exatidão das referências, são de inteira responsabilidade do(s) autor(es). A eventual citação de produtos e marcas comerciais não significa recomendação de seu uso por parte do Conselho Editorial da revista.
5. Os relatos deverão basear-se nas técnicas mais avançadas e apropriadas à pesquisa. Quando apropriado, deverá ser atestado que a pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética e Biossegurança da instituição.
6. Os artigos submetidos poderão ser em português ou inglês. Se aceitos para publicação, será obrigatória a tradução para o inglês.
7. Os artigos serão avaliados por, no mínimo, três consultores da área de conhecimento da pesquisa, de instituições de ensino e/ou pesquisa nacionais e estrangeiras, de comprovada produção científica. Após as devidas correções e possíveis sugestões, o artigo será aceito para publicação se tiver dois pareceres favoráveis, e rejeitado quando dois pareceres forem desfavoráveis. No caso de um parecer favorável e de um desfavorável, a decisão sobre a publicação ou não do artigo será do Conselho Editorial da revista.
8. Os artigos deverão ser submetidos pela internet, acessando o **Portal ACTA**, no endereço <http://www.uem.br/acta>.
9. O conflito de interesses pode ser de natureza pessoal, comercial, política, acadêmica ou financeira. Conflitos de interesses podem ocorrer quando autores, revisores ou editores possuem interesses que podem influenciar na elaboração ou avaliação de manuscritos. Ao submeter o manuscrito, os autores são responsáveis por reconhecer e revelar conflitos financeiros ou de outra natureza que possam ter influenciado o trabalho. Os autores devem identificar no manuscrito todo o apoio financeiro obtido para a execução do trabalho e outras conexões pessoais referentes à realização do mesmo. O revisor deve informar aos editores quaisquer conflitos de interesse que poderiam influenciar sobre a análise do manuscrito, e deve declarar-se não qualificado para revisá-lo.

10. A revisão de português (Resumo) e a revisão de língua estrangeira serão de responsabilidade e custeados pelos autores dos artigos já aceitos para publicação, mediante comprovação emitida pelos revisores credenciados.

11. Os autores devem enviar um texto, em arquivo suplementar, contendo entre 150 e 200 palavras, endereçado ao Editor (não será publicado), informando sobre a **originalidade e a relevância** do seu trabalho.

12. Declaração de Importância: Os autores devem, obrigatoriamente, enviar uma breve declaração (Declaração de Importância) sobre o significado de sua pesquisa. Ela deverá ser escrita para um público em nível de graduação e limitada a 120 palavras. Será revisada pelos pares, junto com o artigo e será incluída na apresentação inicial. A Declaração de Importância terá que abordar os seguintes aspectos: a novidade e o significado do trabalho em relação à literatura existente; o impacto científico e o interesse para os leitores.

13. Estão listadas abaixo a formatação e outras convenções:

a) No processo de submissão, deverão ser inseridos os nomes completos dos autores, (no máximo seis), número identificador (ID) do ORCID, seus endereços institucionais e o *e-mail* do autor indicado para correspondência.

b) Os artigos deverão ser subdivididos com os seguintes subtítulos: Resumo, Palavras-chave, *Abstract*, *Keywords*, Introdução, Material e métodos/Metodologia, Resultados/Discussão, Conclusão/Considerações finais, Agradecimentos (opcional) e Referências. Esses itens deverão ser em caixa alta e em negrito e não deverão ser numerados.

c) O título, com no máximo vinte palavras, em português e inglês, deverá ser preciso. Também deverá ser fornecido um título resumido com, no máximo, seis palavras. O resumo, não excedendo 200 palavras, deverá conter informações sucintas sobre o objetivo da pesquisa, os métodos empregados, os resultados e a conclusão, não devendo ser carregados com números. Deverão ser acrescentadas no final tanto do resumo quanto do *abstract* até seis palavras-chave que identifiquem o tema, utilizando termos listados nos "Descritores em Ciências da Saúde - DECS-LILACS", elaborados pela BIREME.

- d)** Os artigos não deverão exceder 20 páginas digitadas, incluindo figuras, tabelas e referências. Deverão ser escritos em espaço 1,5 linhas e ter suas páginas e linhas numeradas. O trabalho deverá ser editado no *MS-Word*, ou compatível, utilizando *Times New Roman* fonte 12.
- e)** O trabalho deverá ser formatado em A4 e as margens inferior, superior, direita e esquerda deverão ser de 2,5 cm.
- f)** O arquivo contendo o trabalho que deverá ser anexado (transferido), durante a submissão, não poderá ultrapassar o tamanho de 2 MB, nem poderá conter qualquer tipo de identificação de autoria, inclusive na opção propriedades do *Word*.
- g)** Tabelas, figuras e gráficos deverão ser inseridos no texto, logo depois de citados.
- h)** As figuras e as tabelas deverão ter preferencialmente 7,65 cm de largura e não deverão ultrapassar 16 cm.
- i)** As figuras digitalizadas deverão ter 300 dpi de resolução e preferencialmente gravadas no formato jpg ou png. Ilustrações em cores serão aceitas para publicação.
- j)** Deverá ser adotado o Sistema Internacional (SI) de medidas.
- k)** As equações deverão ser editadas, utilizando *software Math Type* ou inseridas como figuras jpg ou png.
- l)** As variáveis deverão ser identificadas após a equação.
- m)** Artigos de revisão poderão ser publicados mediante convite por parte do Conselho Editorial e Editor-Chefe da Eduem.
- n)** A revista aceita um índice máximo de 5% de autocitações e, ainda, recomenda que oitenta por cento (80%) das referências bibliográficas sejam de artigos listados na base *ISI Web of Knowledge*, *Scopus* ou *SciELO* com menos de 10 anos. Recomenda-se dar preferência às citações de artigos internacionais. Não serão aceitas nas referências citações de monografias, dissertações e teses, anais, resumos, resumos expandidos, jornais, magazines, boletins técnicos e documentos eletrônicos.

o) As citações deverão seguir os exemplos abaixo, que se baseiam na norma da *American Psychological Association* (APA). **Para citação no texto**, usar o sobrenome e ano: Ramos (2003) ou (Ramos, 2003); **para dois autores**: Balbinotto e Silva (2008) ou (Balbinotto & Silva, 2008); **para três a cinco autores** (1.^a citação): Mata, Souza, Mata, Oliveira, e Aversi-Ferreira (2008) ou (Mata, Souza, Mata, Oliveira, & Aversi-Ferreira) e, nas citações subsequentes, Mata et al. (2008) ou (Mata et al., 2008); **para seis ou mais autores**, citar apenas o primeiro seguido de et al.: Araújo et al. (2007) ou (Araújo et al., 2007).

MODELOS DE REFERÊNCIAS

Deverão ser organizadas em ordem alfabética, alinhamento justificado, conforme os exemplos seguintes, que se baseiam na norma da *American Psychological Association* (APA). Os títulos dos periódicos deverão ser completos e não abreviados, sem o local de publicação. As referências deverão conter o DOI.

Artigos

Um autor

Ramos, L. R. (2003). Fatores determinantes do envelhecimento saudável em idosos residentes em centro urbano: Projeto Epidoso, São Paulo. *Caderno de Saúde Pública*, 19(3), 793-798. DOI: 10.1590/s0102-311x2003000300011

Dois autores

Balbinotto, G., Nt., & Silva, E. N. (2008). Os custos da doença cardiovascular no Brasil: um breve comentário econômico. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 91(4), 217-218. DOI: 10.1590/s0066-782x2008001600002

Até sete autores

Sousa, T. F., Fonseca, S. A., & Barbosa, A. R. (2014). Regular and negative self-rated health in students from a public university from Northeastern, Brazil: prevalence and associated factors. *Acta Scientiarum. Health Sciences*, 36(2), 185-194. doi: 10.4025/actascihealthsci.v36i2.19171

Oito autores ou mais

Araújo, J. A., Lima, J. S., Moreira, J. C., Jacob, S. C., Soares, O. S., Monteiro, M. C. M., ... Markowitz, S. (2007). Exposição múltipla a agrotóxicos e efeitos à saúde: estudo transversal em amostra de 102 trabalhadores rurais, Nova Friburgo, RJ. *Ciência e Saúde Coletiva*, 12(1), 115-130. DOI: 10.1590/s1413-81232007000100015

Livros

Dias, A. A. (2006). *Saúde bucal coletiva: metodologia de trabalho e práticas*. São Paulo, SP: Santos.

Ferreira, A. B. (2006). O uso do teste ergométrico nas valvopatias. In M. Grinberg, R. O., & Sampaio (Ed.), *Doença valvar* (p. 26-27). Barueri, SP: Manole.

Prazo médio entre submissão e publicação dos artigos publicados em 2016: 7 meses.

ANEXO 2 – Declaração de Direito Autoral

Declaração de Direito Autoral

DECLARAÇÃO DE ORIGINALIDADE E DIREITOS AUTORAIS

Declaramos que o presente artigo é original, não tendo sido submetido à publicação em qualquer outro periódico nacional ou internacional, quer seja em parte ou em sua totalidade.

Os direitos autorais pertencem exclusivamente aos autores. Os direitos de licenciamento utilizados pelo periódico é a licença Creative Commons Attribution 3.0 (CC BY 3.0): são permitidos o compartilhamento (cópia e distribuição do material em qualquer meio ou formato) e adaptação (*remix*, transformação e criação de material a partir do conteúdo assim licenciado para quaisquer fins, inclusive comerciais.

Karlivânia Ferreira de Andrade

Paulo Rogério Ferreti Bonan

ANEXO 3 – Declaração de Conflito de Interesse

Declaração de Conflito de Interesse

Os autores do artigo intitulado:

Desenvolvimento e Avaliação da Atividade Hemaglutinante de Esponjas de Quitosana e Nanopartículas de Policaprolactona Carreandas com Ácido Tranexâmico, declaram não possuir conflito de interesse que possa interferir na imparcialidade do trabalho científico.

____ / ____ / ____

Karlivânia Ferreira de Andrade

Paulo Rogério Ferreti Bonan

ANEXO 4 – Declaração de Importância

Declaração de Importância

Este trabalho enfoca a necessidade de obtenção de biomateriais com ação hemostática, visto que, nenhum trabalho prévio na literatura associou as propriedades hemaglutinantes e coagulantes da quitosana e do ácido tranexâmico em um composto nanoparticulado. A quitosana é um biomaterial amplamente estudado por apresentar, dentre as suas propriedades, a bioadesividade, biocompatibilidade, estimular a migração e proliferação celular e promover a formação do tecido de granulação. O ácido tranexâmico, embora pouco estudado, tem se mostrado eficaz no controle de hemorragias, por agir por meio de um mecanismo competitivo, inibindo a ativação do plasminogênio a plasmina, preservando o coágulo, peça fundamental para a promoção da cicatrização.

ANEXO 5 – Carta Endereçada ao Editor

Carta Endereçada ao Editor

Prezado Editor,

O manuscrito intitulado – **Desenvolvimento e Avaliação da Atividade Hemaglutinante de Esponjas de Quitosana e Nanopartículas de Policaprolactona Carreando Ácido Tranexâmico** – de autoria de Paulo Rogério Ferreti Bonan e Karlivânia Ferreira de Andrade, trata-se de uma obra original e inédita. Nenhum trabalho prévio na literatura associou as propriedades hemaglutinantes e coagulantes da quitosana e ácido tranexâmico em um composto nanoparticulado. Sendo a quitosana um biomaterial amplamente estudado por apresentar, dentre as suas propriedades, a bioadesividade, biocompatibilidade, estimular a migração e proliferação celular e promover a formação do tecido de granulação. O ácido tranexâmico tem se mostrado eficaz no controle de hemorragias, por agir por meio de um mecanismo competitivo, inibindo a ativação do plasminogênio a plasmina, preservando o coágulo, peça fundamental para a promoção da cicatrização. Este trabalho mostrou que as esponjas de quitosana formadas apresentaram atividade hemaglutinante e é fundamental para os ensaios in vivo, que serão realizados posteriormente, para possível uso como agente hemostático.

